Aktivitas antikanker dan antiproliferasi fraksi etanol sarang semut (*Myrmecodya pendans*) pada sel kanker lidah manusia SP-C1 *(Anti-cancer and anti-proliferation activity of ethanol fraction of ant nest plants (Myrmecodya pendans) on human tongue cancer cell SP-C1)*

[1]Harun Achmad, [2]Supriatno, [1]Marhamah, [3]Rasmidar
[1]Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar
[2]Bagian Oral Medicine dan Oncologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
[3]Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar
Indonesia

ABSTRACT
Squamous cell carcinoma at the tongue is a malignant tumor derived from epithelial mucosa of the oral cavity. This study aims to identify and to analyze the effect of flavonoid fraction of etanol of ant nests plants (Myrmecodia pendans) as an anti-cancer barrier against the proliferation of SP-C1 tongue cancer cells. The study was conducted with pure experimental laboratory methods using Supri's-Clone 1 (SP-C1) human tongue cancer cells cultured. Research gradually begins with determination, extraction and fractionation ant nests plant, cytotoxicity test to get a fraction of flavonoids that have anticancer potential,and finaly testing the proliferation barriers. Cytotoxicity test showed that from the highest concentration (1000 µg/mL) to the lowest concentration (7.8125 µg/mL) in etanol fraction, fraction hexan and water caused Sp-C1 human tongue cancer cells death significantly. Ethanol fraction LC_{50} values of 938,003. These results were obtained from the linear equivalent of the relation between log consentration and probit. Flavonoid etanol fraction of ant nest has an inhibition effect against proliferation of SP-C1. Antiproliferative analysis of flavonoid fraction of ethanol flavonoid based on concentration and incubation time on optical density absorbation SP-C1 cells was statistically highly significant (p=0.00).
***Key words**: SP-C1 tongue squamous cell carcinoma, ethanol fraction of ant nest plant, proliferation*

ABSTRAK
Karsinoma sel skuamosa pada lidah merupakan tumor ganas yang berasal dari mukosa epitel rongga mulut. Penelitian bertujuan mengidentifikasi dan menganalisis pengaruh flavonoid fraksi etanol sarang semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai antikanker terhadap hambatan proliferasi pada sel kanker lidah SP-C1. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen murni laboratorium dengan menggunakan biakan sel kanker lidah manusia *Supri's-Clone 1* (SP-C1). Penelitian secara bertahap dimulai dari determinasi, ekstraksi dan fraksinasi tumbuhan sarang semut, uji sitoksisitas untuk mendapatkan fraksi flavonoid yang memiliki potensi antikanker, hingga uji hambatan proliferasi. Hasil penelitian uji sitotoksisitas menunjukkan bahwa dari konsentrasi tertinggi, yaitu 1000 µg/mL hingga konsentrasi terendah 7,8125 µg/mL pada fraksi etanol, fraksi heksan dan air menghasilkan data persentase kematian sel kanker lidah SP-C1 yang signifikan. Nilai LC_{50} fraksi etanol sebesar 938.003. Hasil ini diperoleh dari persamaan garis dari kurva hubungan log kadar vs probit. Flavonoid fraksi etanol sarang semut memiliki efek hambatan proliferasi pada SP-C1. Analisis antiproliferasi flavonoid fraksi etanol berdasarkan konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap absorbasi *optical density* SP-C1 secara statistik sangat bermakna (p=0,00).
Kata kunci: karsinoma sel skuamosa lidah SP-C1, fraksi etanol sarang semut, proliferasi

Koresponden: Harun Achmad. *E-mail*: harunachmad@yahoo.com

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan rusaknya mekanisme pengaturan dasar perilaku sel, khususnya mekanisme pertumbuhan dan diferensiasi sel. Kanker terjadi karena adanya kesalahan atau kegagalan dalam kondisi sel-sel yang mengakibatkan tidak terkendalinya faktor pertumbuhan. Proses terjadinya kanker disebut karsinogenesis,[1] yang diawali peningkatan proliferasi sel yang mengalami mutasi genetik sehingga terjadi reproduksi sel secara berlebihan.[2,3] Sel kanker diawali dari proses mutasi DNA, kendali regulasi pertumbuhan sel normal yang terganggu sehingga terjadi proliferasi sel yang tak terkendali, dan akhirnya apoptosis menurun secara signifikan.[4]

Kanker yang terjadi pada rongga mulut berkisar 2-3% dari seluruh kanker pada manusia; kanker lidah 25-50% dari seluruh kanker rongga mulut, dan lebih dari 90% berasal dari jaringan epitel, yaitu karsinoma sel skuamosa.[5-7] Karsinoma sel skuamosa adalah neoplasma yang bersifat ganas, yang berasal dari lapisan sel epitel skuamosa yang dapat merusak jaringan sekitar dan bermetastasis.[8] Kanker yang terjadi pada rongga mulut bervariasi pada beberapa negara; di India dan beberapa negara lain di Asia mempunyai rata-rata yang paling tinggi yaitu 40%,

ISSN:1412-8926

sedangkan di Negara-negara Barat insidensinya 3% dari seluruh kanker pada manusia. Di Indonesia, distribusi sel kanker lidah mencapai 1,01% dari keseluruhan kanker, dan 42% dari seluruh kanker rongga mulut. Usia terbanyak penderita adalah 45-54 tahun dengan perbandingan pria dan wanita adalah 2:1. Frekuensi karsinoma rongga mulut cenderung bertambah, dan hingga kini telah menempati urutan ke-6 dari 10 kanker yang paling sering ditemukan di negara berkembang.[9-11]

Kanker lidah merupakan kanker rongga mulut yang banyak terjadi dan dapat bermetastasis dengan cepat, baik secara regional maupun tempat yang jauh dari lesi primer, baik melalui kelenjar getah bening maupun aliran darah,[5,11] biasanya ditemukan pada bagian lateral atau ventral lidah. Karsinoma pada dasar atau bagian posterior lidah umumnya mempunyai gradasi keganasan yang tinggi dan berpotensi bermetastasis pada stadium awal sehingga memperburuk prognosis.[7,12] Walaupun beberapa terapi konvensional pengobatan keganasan seperti pembedahan, radioterapi, kemoterapi, imunoterapi, dan terapi kombinasi yang diterapkan secara simultan atau berseri telah dilakukan tetapi rerata lamanya hidup penderita belum berubah dan sering terjadi rekurensi,[13] sehingga diperlukan perawatan yang efektif terhadap penyakit sel kanker lidah.

Tingginya proliferasi sel serta tidak terkendali, disebabkan adanya gangguan keseimbangan faktor proto-onkogen dan gen penekan tumor sehingga terjadi peningkatan produksi *growth factors* dan jumlah reseptor permukaan sel yang dapat memacu transduksi sinyal antar sel untuk menaikkan produksi faktor transkripsi. Kerusakan DNA menyebabkan berhentinya siklus sel pada fase G_1, selanjutnya akan terjadi proses perbaikan. Jika kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki maka sel tersebut akan mengalami apoptosis.[8,9] Karsinoma sel skuamosa lidah terjadi sebab kehilangan kontrol pada siklus sel, yaitu *control cell survival* atau hilangnya kemampuan apoptosis, dan *control cell motility* atau meningkatnya aktivitas invasi dan metastasis.[8,9]

Hasil beberapa penelitian telah membuktikan khasiat sarang semut (*Myrmecodia pendans*) untuk pengobatan kanker; hal ini terungkap setelah sarang semut digunakan sebagai obat alternatif perawatan kemoterapi kanker payudara dengan efek samping yang minimal. Pengobatan dengan obat tradisional sarang semut tidak banyak memakan biaya serta efek sampingnya minimal dibanding kemoterapi yang membutuhkan banyak biaya dan memiliki banyak efek samping.[14,15]

Uji penapisan kimia tumbuhan sarang semut menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa-senyawa kimia golongan flavonoid dan tanin. Banyak mekanisme kerja flavonoid yang telah terungkap, antara lain seperti inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, inhibisi siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, serta penghambatan angiogenesis. Kemampuan tanaman sarang semut secara empiris untuk pengobatan berbagai jenis kanker atau tumor, diduga kuat terkait dengan kandungan senyawa flavonoid dari sarang semut.[14,15]

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang diketahui sebagai komponen penting diet manusia.[15] Flavonoid adalah fenil pengganti *chromones*, yang turunan benzopyran, yang terdiri atas rangka dasar karbon-15 (C6-C3-C6), kroman (C6-C3), inti (cincin benzo-A dan cincin heterosiklik C), juga berbagi oleh tokoferol, dengan fenil (cincin aromatik B) substitusi biasanya pada posisi-2. Substitusi yang berbeda biasanya dapat terjadi pada cincin A dan B. Penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa flavonoid pada makanan tertentu memiliki aktivitas antitumor. Pola hidroksilasi pada cincin B flavon dan flavonol, seperti luteolin dan quercetin yang mempengaruhi inhibisi aktivitas protein kinase dan antiproliferasi. Flavonol dan flavon menargetkan sel permukaan enzim transduksi sinyal, seperti tirosin kinase protein dan adesi fokal kinase (AFK), dan proses angiogenesis menjadi sasaran yang menjanjikan sebagai obat antikanker.[16,17] Tanaman sarang semut mengandung flavonoid, tanin dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan, sehingga sangat baik untuk mencegah penyakit kanker. Selain itu, sarang semut juga mengandung tokoferol dan α-tokoferol, zat dengan dengan aktivitas tinggi yang mampu menghambat radikal bebas.[17]

Sel *Supri's-Clone* (SP-C1) telah banyak diteliti untuk mendapatkan senyawa zat antikanker dari tanaman herbal maupun efektivitas obat sintetik terhadap pertumbuhan sel kanker. SP-C1 merupakan sel kanker lidah yang diisolasi dari limfonodus penderita kanker lidah, berasal dari karsinoma sel skuamosa yang berdiferensiasi sedang dan belum mengalami invasi ke jaringan otot.[18]

Penelitian ini dimaksudkan untuk menganalisis dan mengidentifikasi pengaruh flavonoid fraksi etanol sarang semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai antikanker terhadap hambatan proliferasi pada sel kanker lidah SP-C1.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan cara eksperimen murni laboratorium dengan menggunakan biakan sel kanker lidah manusia SP-C1, yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Jogyakarta pada

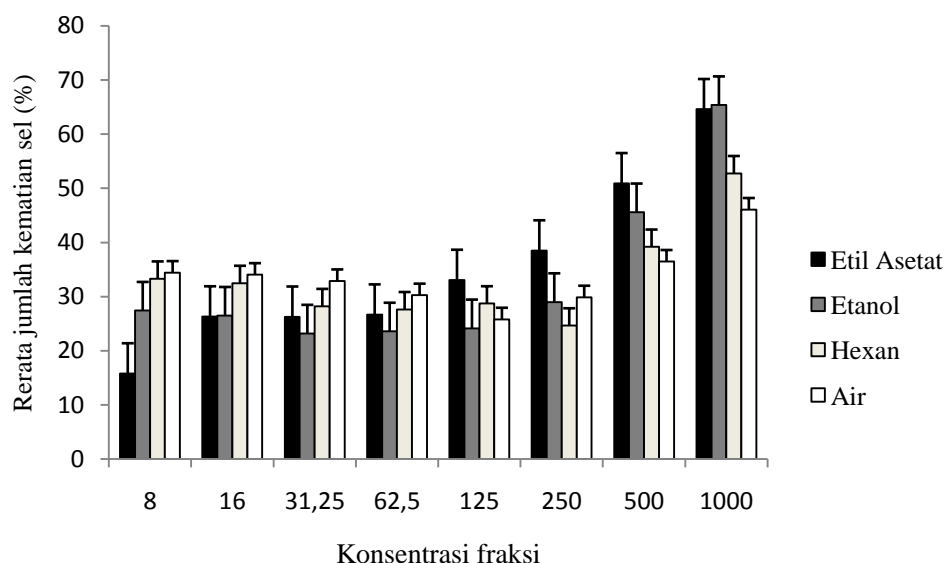
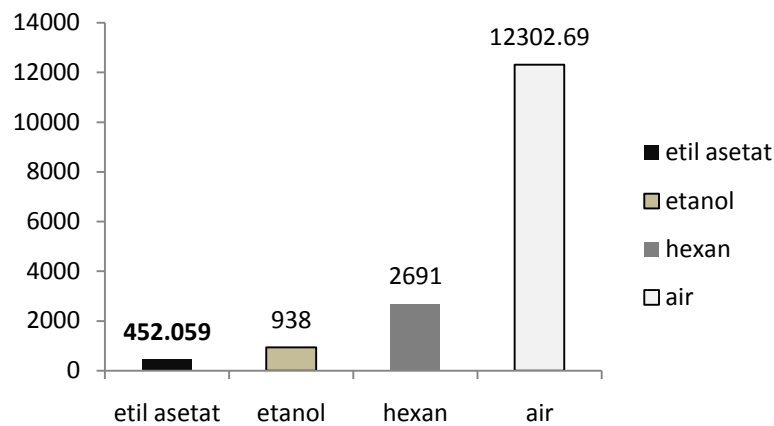
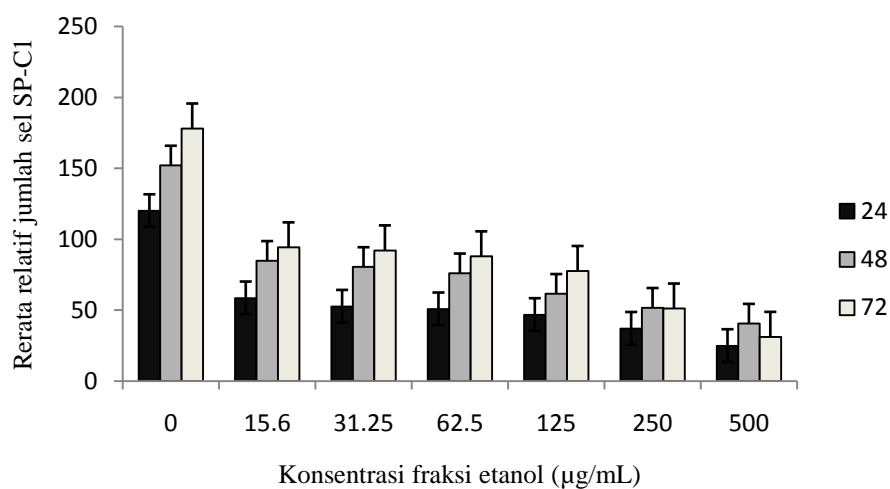
bulan Juli-Oktober 2013. Tumbuhan sarang semut berasal dari Kabupaten Jayawijaya Papua. Sebanyak 900 g sarang semut segar diekstraksi menggunakan etanol dan selanjutnya dievaporasi hingga dihasilkan ekstrak etanol yang selanjutnya dilarutkan di dalam air suling, lalu dipartisi di dalam corong pisah menggunakan *n*-heksana sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana dan air (H_2O). Fraksi air yang diperoleh, dipartisi kemudian antara air, etil asetat dan etanol menghasilkan fraksi etil asetat.

Uji sitotoksisitas pada penelitian ini dilakukan dengan menginkubasi sel dengan jumlah $2x10^4$ sel selama 24 jam bersama seri konsentrasi flavonoid sarang semut. Analisis dilakukan dengan uji MTT (3-(4,5 dimethyl thiazol-2-yl)-2.5-diphenyltetrazolium bromide), yang merupakan garam tetrazolium yang umum digunakan dalam penetapan kuantitatif sel mamalia yang hidup atau proliferasi dengan metode kalorimetri *in vitro*. Metode tersebut hanya digunakan pada sel hidup, karena berdasar pada derajat aktivasi sel. (Mossman). Konsentrasi dalam uji sitotoksisitas flavonoid sarang semut adalah dengan interval angka 1000 µg/mL batas atas dan 7,812 µg/mL batas bawah, yaitu pada interval berturut-turut 7,812 µg/mL, 18,625 µg/mL, 31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL, dan 0 µg/mL sebagai kontrol.

Pengujian penghambatan proliferasi dengan perlakuan flavonoid fraksi etil asetat dilakukan berdasarkan data absorbansi *viable* sel yang hidup pada pengukuran ELISA reader *optical density* 550 nm. Hasil pengukuran penghambatan proliferasi sel dengan pemberian perlakuan flavonoid fraksi etil asetat selanjutnya dilakukan dengan membuat tabel hubungan rerata relatif jumlah sel SP-C1 dengan konsentrasi, yaitu dari 500, 250, 125, 62,5, 31,25, dan 15,625 µg/mL serta kontrol sel.

HASIL

Hasil penelitian uji sitotoksisitas menunjukkan persentase kematian sel kanker lidah SP-C1 dari masing-masing perlakuan terus meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Flavonoid fraksi etanol dan fraksi etil asetat menghasilkan hambatan pertumbuhan sel potensial dibanding fraksi-fraksi heksan dan fraksi air. Fraksi etanol flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 65,37%, dan konsentrasi terendah 7,8125 µg/mL menyebabkan kematian sel sebesar 23,18% sel. Hasil grafik persentase rerata jumlah kematian sel karena pemaparan empat fraksi dengan konsentrasi tertentu (gambar 1).

Hasil penelitian uji sitotoksisitas diperoleh LC_{50} masing-masing fraksi, yang terdiri atas fraksi etil asetat, fraksi etanol, fraksi heksan serta fraksi air berturut-turut adalah 452,059 µg/mL; 938.003 µg/mL; 2691,535 µg/mL; 12302,69 µg/mL. Hasil ini diperoleh dari persamaan garis kurva hubungan log kadar dan probit. Penelitian ini mengacu pada standar dari Meyer yang menyatakan bahwa suatu zat dikatakan aktif atau memiliki sifat toksik bila memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 µg/mL untuk ekstrak dan sama atau kurang dari 30 µg/mL suatu senyawa. Ekstrak dianggap toksik bila memiliki nilai LC_{50} 30-1000 µg/mL dan dianggap tidak toksik bila nilai LC_{50} di atas 1000 µg/mL. Tingkat toksisitas

Gambar 1 Grafik hubungan konsentrasi dengan rerata persentase kematian sel akibat efek sitotoksik fraksi etil asetat, etanol, heksan dan air sarang semut (*myrmecodia pendans*) terhadap sel kanker lidah SPC1

Gambar 2 Hasil LC_{50} pada uji sitotoksisitas masing-masing fraksi flavonoid

Gambar 3 Profil pertumbuhan sel kanker lidah SPC1 hasil uji proliferasi fraksi etanol dari sarang semut pada waktu 24, 48 dan 72 jam

tersebut memberi makna terhadap potensi aktivitas sebagai antitumor (gambar 2). Nilai LC_{50} digunakan sebagai parameter untuk mengidentifikasi potensi sitotoksik fraksi flavonoid sarang semut terhadap sel kanker lidah SP-C1. Semakin kecil harga $LC_{50,}$ maka semakin toksik suatu senyawa. Karena nilai kadar LC_{50} dari flavonoid fraksi etil asetat tanaman sarang semut sebesar 938.003 µg/mL;menunjukkan bahwa konsentrasi fraksi ini masih di bawah angka 1000 µg/mL, maka disimpulkan bahwa flavonoid fraksi etanol sarang semut mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker lidah SPC1 berdasarkan kriteria Meyer.[19]

Hasil pengujian hambatan proliferasi sel SP-C1 dengan perlakuan fraksi etanol menunjukkan bahwa terdapat penghambatan pertumbuhan sel berdasarkan konsentrasi yang diberikan, mulai dari konsentrasi terendah 15,625 µg/mL hingga konsentrasi tertinggi yaitu 500 µg/mL. Demikian pula pada faktor waktu inkubasi 24, 48 serta 72 jam memperlihatkan bahwa semakin lama inkubasi, semakin besar penghambatan pertumbuhan sel.

Berdasarkan hasil yang diperoleh (gambar 3), terlihat bahwa secara umum flavonoid fraksi etanol mempunyai aktivitas penghambatan pertumbuhan sel SP-C1. Hal ini ditunjukkan pada pengukuran SP-C1 menggunakan *ELISA reader*. Terlihat pengaruh pemberian fraksi beberapa konsentrasi yang lebih besar penghambatan pertumbuhannya dibandingkan dengan kontrol. Semakin besar konsentrasi sampel semakin sedikit jumlah sel yang hidup. Hambatan pertumbuhan terlihat dengan jelas pada konsentrasi 500 µg/mL, dengan menghambat aktivitas proliferasi sel SP-C1.

PEMBAHASAN

Perlakuan flavonoid fraksi etanol terhadap sel kanker lidah SP-C1 berdasarkan konsentrasi yang diberikan, memperlihatkan terjadi penurunan jumlah sel yang terlihat mulai dari konsentrasi 15,625 ug/mL

hingga konsentrasi 500 ug/mL yang berarti terjadi hambatan pertumbuhan sel. Akan tetapi perlakuan flavonoid fraksi etanol terhadap sel kanker lidah SP-C1 berdasarkan waktu inkubasi terjadi sebaliknya, yaitu terjadi peningkatan jumlah sel dari jam-24 ke jam-48 hingga jam ke-72. Peningkatan jumlah sel ini tidak setinggi pertumbuhan sel kontrol. Pada gambar 3 perlakuan flavonoid fraksi etanol, konsentrasi 500 µg/mL berdasarkan waktu inkubasi tampak diawali dengan peningkatan jumlah sel dari 24,89% pada jam-24 menjadi 40,54% pada jam-48. Namun pada jam ke-72 terjadi penurunan jumlah sel menjadi 31,14%. yang berarti sel mengalami kejenuhan dan saturasi. Kematian ini mungkin dapat terjadi melalui mekanisma *arrest*, yaitu *cell cycle arrest* yang biasa terjadi pada fase G1/S.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya terhadap ekstrak sarang semut yang mengandung senyawa flavonoid dan tanin dengan menunjukkan hambatan terhadap pertumbuhan sel HeLa dan sel MCM-B2.[17] Fraksi etil asetat tumbuhan sarang semut memiliki efek imunomodulator, yaitu dengan pemberian fraksi etil asetat sarang semut pada efek proliferasi sel limfosit mencit BALB/c secara *in vitro*.[20]

Hasil penelitian ini yang menegaskan bahwa flavonoid fraksi etanol sarang semut menghambat proliferasi sel kanker lidah SP-C1 didukung secara teoritis, bahwa flavonoid dapat menghambat kinerja keseluruhan *cyclin dependent kinase* (Cdk) yang merupakan regulator siklus sel. Titik kerja flavonoid terletak pada hambatan kerja enzim Cdk-*activating* kinase (CAK) sehingga menghambat terbentuknya kompleks Cdk-*cyclin* yang aktif. Flavonoid dapat berikatan dengan protein kinase pada *ATP-binding site*-nya.[21] C*heck point* pada G1/S dan di G2/M terganggu oleh adanya flavonoid yang menghambat proses transduksi sinyal dari faktor pertumbuhan. Flavonoid mampu menginaktivasi protein-protein yang berperan dalam transduksi sinyal, misalnya tirosin kinase.[17,18] Pernyataan-pernyataan tersebut menjelaskan kemungkinan terjadinya induksi *cell cycle arrest* oleh peran flavonoid.

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam *herbal medicine* mempunyai efek memblok reseptor *growth factor*, menginhibisi *mitogen activated protein kinase* (MAPK), pada jalur sinyal reseptor tirosin kinase (RTKs). Pada senyawa flavonoid yang terkandung dalam *herbal medicine*, misalnya teh hijau, memiliki efek inhibisi pertumbuhan pada sel kanker payudara (sel T47D). Mekanisma inhibisi pertumbuhan tersebut terutama pada MAPK dengan cara memfosforilasi berbagai protein termasuk *transcription factor* yang dibutuhkan pada sintesis protein dalam diferensiasi dan siklus sel.[22]

Dari hasil penelitian ini, disimpulkan fraksi flavonoid sarang semut memiliki potensi antikanker pada sel kanker lidah jenis karsinoma sel skuamosa. Fraksi flavonoid tanaman sarang semut memiliki efek penghambatan proliferasi pada sel kanker lidah. Hambatan pertumbuhan sel kanker lidah (SP-C1) sebesar 57,90% dari fraksi etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sudiana IK. Patologi molekuler kanker. Jakarta: Penerbit Salemba Medika; 2008. p.53-9.
2. Silalahi J. Antioksidan dalam diet dan karsinogenesis. Cermin Dunia Kedokteran 2006; 153: 39-42.
3. Syafriadi M. Patologi mulut: tumor neoplastik dan non neoplastik rongga mulut. Yogyakarta: Penerbit Andi; 2008. p.74-91.
4. Moore UJ. Principles of oral and maxillofacial surgery. 5th Ed. London: Blackwell Science 2001. p.224-40.
5. Ord RA, Blanchaert RH. Oral cancer: The dentist's role in diagnosis, management, rehabilitation and prevention. Chicago: Quintessence Publishing Co.; 2001. p.3-17.
6. Glebov OK. Celecoxib treatment alters the gen expression profile of normal colonic mucosa. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15 (7): 1382-90.
7. Yusuf HY. Ekspresi protein produk gen NM23 pada karsinoma sel skuamosa lidah. Dentika Dent J 2006; 11: 5-8
8. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. Contemporary oral and maxillofacial pathology. 2nd Ed. St. Louis: Mosby; 2004: 164-206.
9. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. 2nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002: 356-66.
10. King RJ, Robins MW. Cancer biology. 3rd Ed. London: Pearson Education Limited; 2006. p.209-29.
11. Soendoro T. Laporan Riskesdas 2007. Kementerian Kesehatan Republik Indonesian; 2008.
12. Wood NK, Sawyer DR. Oral cancer. In: Wood NK, Goaz PW. (eds). Differential diagnosis of oral and maxillofacial lesion. St. Louis: Mosby Inc.; 1997. p.587-95
13. Hasibuan S. Prosedur deteksi dini dan diagnosis kanker rongga mulut. Digitized by USU digital library; 2004. p.1-7.
14. Simanjuntak P, Fanny, Subroto MA. Isolasi senyawa aktif dari ekstrak hipokotil sarang semut (Myrmecodia Pendans) sebagai penghambat xantinoksidase. J Ilmu Kefarmasian Indonesia 2010: 49-54.
15. Subroto A, Saputro H. Gempur penyakit dengan sarang semut. Jakarta: PT Agromedia Pustaka; 2007.

16. Kandaswami C, Lee LT, Lee PP, Hwang JJ, Ke FC, Huang YT, Lee MT. The antitumor activities of flavonoids. PubMed 2005; 19(5): 895-909
17. Soeksmanto MA, Subroto H, Wijaya, Simanjuntak P. Anticancer activity test for extracts of sarang semut plant (Myrmecodya pendens) to HeLa and MCM-B2 Cells. Pakistan J Biologic Sci 2010; 13: 148-51.
18. Supriatno, Yuletnawati. Aktifitas anti kanker cepharantine pada kanker lidah manusia in vitro (tinjauan proliferasi, invasi, dan metastasis sel), Majalah Kedokteran Gigi UGM 2006: 141-5.
19. Meyer BN, Ferrigni, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Medica 1982; 45: 31-4
20. Hertiani T, Sasmito E, Sumardi. Preeliminary study on immunomodulatory effect of sarang semut tubers Myrmecodia pendans. J Biologic Sci 2010; 10 (3): 136-41
21. Pan M, Chen W, Lin-Shiau S, Ho C, Lin J. Tangeretin induces cell cycle G1 arrest through inhibiting cyclin dependent kinase 2 and 4 activities as well as elevating Cdk Inhibitors p21 and p27 in human colorectal carcinoma cells. Carcinogenesis 2002; 23 (10): 1677-84.
22. Middleton EJ, Kandaswami C, Theoharides TC. Efek dari flavonoid tanaman pada sel mamalia: Implikasi untuk peradangan, penyakit jantung dan kanker. Pharmacol Rev 2000; 52: 673-751.